

## 【研究】

## 血清総コレステロールの定量 Zurkowski 法について

栗山赤十字病院中検

坂 上 隆 敏

コレステロールの定量法は莫大な数に達するが、そのほとんどが、妨害物質の影響の大部分を除くことによって実用に供されてきた。

しかしながら、血清を対照とする臨床検査にあつては、妨害物質の種類は比較的限られているから、多数の検体を迅速に測定しなければならないこと、操作の煩雑さはややもすると妨害物質の影響以上に誤差を大きくすることになりかねないこと、等を考えると、妨害物質の全てを除いて測定する方法が、必ずしも理想的方法であるとは云いがたい。

最近 Zurkowski が直接法によって優れた成績を出せることを報告し、注目を集めている。このたび私は、Zurkowski 紫田法を日常検査に導入すべく着手し、二、三検討したので報告する。

## 実験試薬及び実験方法

## 試薬

1. 5 g/dl スルフォサルチル酸水醋酸溶液
2. 無水醋酸特級
3. 純硫酸（精密分析用）
4. 呈色試薬

上記の試薬 1. 2. 3=35ml, 65ml, 10ml の割合で混合する。放冷し密栓遮光して室温保存。

## 5. 標準液

コレステロール濃度既知の管理血清、Versatol-A を標準液として使用。

## 操作

1. 採量 小試験管  $C_1 C_2 C_3$  は Sanz ピペットで標準液 0.05ml ずつをとり、同じく小試験管 S に被検血清 0.05 ml をとる。又、小試験管 b を用意し、それには何もいれない。
2. 発色 各試験管に minipette から呈色試薬 3.0 ml ずつを順に加えて混和、室温に静

置する。

3. 比色 光電比色計にフィルター 620m $\mu$  をかけ b の液（呈色試薬そのもの）で吸光度を O に合せ、 $C_1 C_2 C_3$  及び S 順序に吸光度を読む。

4. 計算 
$$\frac{S \text{ の吸光度}}{C_1 C_2 C_3 \text{ の吸光度の平均}} \times C \text{ の濃度} = \text{求める濃度}$$

## 実験成績

## 1. 吸収曲線

呈色させたコントロール血清、被検血清、コレステロールエタノール基準液共に、図 1 に示すように波長 620m $\mu$  に最大吸収を示した。

図 1 コレステロールの Zurkowski 変による呈色  
いずれも 620m $\mu$  に吸光極大がある。

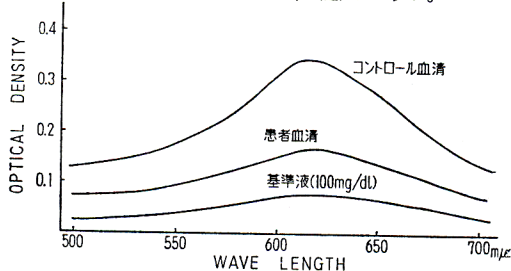
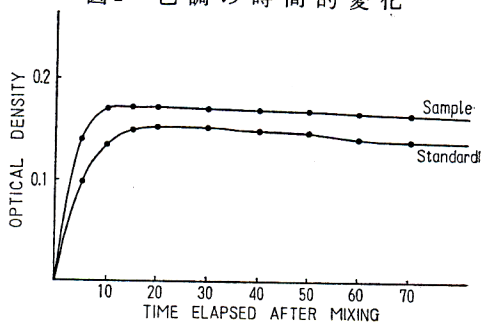


図 2 色調の時間的变化



## 2. 色調の時間的变化

図 2 に示すように、基準液よりも血清の方が最

大発色が速く、両者共に15分から30分くらい迄安定していることを確めた。

### 3. 標準物質について

標準物質としてコレステロールエタノール基準液と、表示値を確めたコントロール血清を使用したところ、表1の如く、Zurkowski法でエタノール基準液を使用したものは、Zak-Henly北村変法に比べて約12%高い値となり、コントロール血清を標準としたものは、Zak-Henly北村変法とよく一致した成績を得た。

表1 同一患者血清コレステロール値の方法による相違

	Zak-Henly 北村変法		Zurkowski 法	
	氷 醋 酸 基 準 液	血清基準液	エタノール 基 準 液	血清基準液
例 数	N=15			
平均値	184.7mg/dl	183.5mg/dl	206.7mg/dl	183.5mg/dl
%	100.0%	99.4%	111.9%	99.4%

表2 添加回収試験

期 待 値	実 測 値	回 収 率
201 <sup>mg/dl</sup>	203 <sup>mg/dl</sup>	101.0%
191	192	100.6
159	158	99.4
177	178	100.7
197	197	100.0
185	189	102.1

表4 ビリルビンによる影響(1)

試 料	A ビリルビン mg/dl Evelyn-Malloy	コ レ ス テ ロ ー ル mg/dl			
		B Zurkowski	C Zak-Henly	B - C	B - C A
1	22.2	288	172	116	5.2
2	18.2	244	147	97	5.3
3	26.6	366	214	152	5.7
4	3.1	228	212	16	5.2
5	3.6	195	176	19	5.3
6	1.4	156	149	7	5.0
7	1.9	196	188	8	4.2
8	1.7	241	232	9	5.2
9	1.1	284	278	6	5.5
計	8.87	244	197	47.8	5.3

表3 標準偏差

繰り返し (n)	総コレステロール測定値
1	154 (mg/dl)
2	153
3	154
4	154
5	153
6	158
7	156
8	156
9	159
10	157
m	155.6 (mg/dl)
標準偏差 (S. D)	2.36 ( )
変動係数 (C. V)	1.52%

### 4. 回収試験

6例の血清に、コレステロール 300mg/dl を 1 : 9 に添加して回収試験を試みたところ、表2に示すごとく平均 100.6%とよい結果を得た。

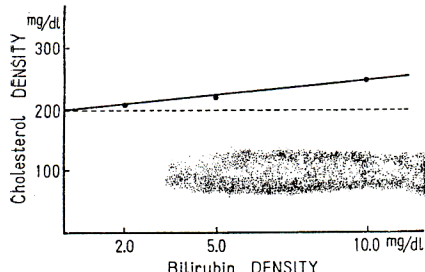
### 5. 繰り返し測定

同一血清について 10 回繰り返し測定したところ、表3の通り変動係数 1.52% と非常に良好な成績を得た。

### 6. ビリルビンの影響

ビリルビンの影響が殆んどないと云われるZak-Henly 北村変法と比較したのが表4で、Zurkowski 紫田法と Zak-Henly 北村変法によるコ

図3 ビリルビンによる影響(2)



コレステロールの差は、ビリルビン 1mg/dl について換算し、約 5.3mg/dl となった。そこで、既知濃度の蛋白結合ビリルビンを各段階に希釈し、コレステロール 200mg/dl 基準液に添加したものの測定は、図3に示すように、ビリルビン 1mg/dl について、コレステロールの読みが平均 4.6mg/dl 高くでた。

## 7. コントロール血清の測定値

5種のコントロール血清を測定した結果は、表

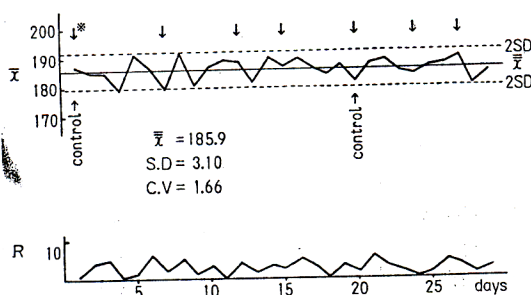
表 5 コントロール血清の測定値 Zurkowski (血清基準液による)

コ ン ト ロ ー ル 血 清				測 定 値
品 名	Lot No	表 示 測 定 法	表 示 値	
ハイランドーノルマル	HO39 EO11 A 1	Zak-Henly 変法	175	174
ケ ム ト ロ ー ル	1850	Schonheimer-Sperry	102	102
コレス.トロールD	CTD- 309	抽出, ケン化法 (abell)	186	192
コレス.トロール	CT- 260A 2	〃	192	188
モニ.トロール I	LTD94A	〃	188	188

5の通りである。これらの測定値は、表示値と±3.2%以内でよく一致した。

## 8.

測定値の変動を見るために、プール血清を使用して管理図図4を作った。この管理図でみるように、標準偏差 3.10 変動係数 1.66 という結果をみた。

図4  $\bar{x}$ -R 管理図

## 考 察

## 標準物質について

血清と標準液が同一試料として扱えないことは他の検査でも同じであるが、本法における呈色の安定性において、血清では試薬添加後数分で最大発色に達するのに、コレステロールエタノール基

準液では約20分を要すること、血清ではグリーン調に呈色するのに、基準液ではブルー調であること、エタノール基準液を用いると Zak-Henly 北村変法に比較して約12%高い値を示すが、コントロール血清を用いるとよく一致する、などのことから、直接法である本法の標準物質としては、Sample と同じような条件において測定出来るものと考え、ルーチンにおける基準にはコレステロール用コントロール血清を用いる方がよいと考える。

## 妨害物質の影響について

吸収極大が 620m $\mu$  という長波長測にあるので、蛋白、色素の妨害は殆んど受けることがないが、ビリルビンの影響は考慮すべきである。亜硝酸ソーダによってビリルビンを破壊し、その妨害を除くという方法においても、私達の実験では高濃度のビリルビンの影響はさけられない。幸いビリルビンを定量しビリルビン濃度 1 mg/dl についてコレステロール濃度 5 mg/dl だけ高い定量値を得るものと見做して補正すると、Zak-Henly 北村変法とよく一致した成績を得ることができる。

## 正確度について

本法では、遊離コレステロールはコレステロールよりもやや強く呈色するから、標準的定量法である Schoenheimer-Sperry 法ほど厳密な定量値を与えるものではないが、コレステロール用コントロール血清を標準物質とすれば、Zak-Henly 北村変法とよく一致し、5種のコントロール血清の測定値は、その表示値の  $\pm 3.2\%$  以内に入ることから、日常検査に要求される正確度においては、充分満足すべきものと思われる。

精度について

Zak-Henly 北村変法は、コレステロール氷醋酸基準液の発色が日々動揺し、そのため再現性が

そこなわれると云われているが、本法で約1ヶ月プール血清について管理図を作ってみたところ、その変動係数は1.16%と良好な結果を得、再現性の優秀性が立証された。臨床的に、迅速、簡便ということが重んぜられる時には、抽出までも省略した直接法は充分利用しうるし、この場合の再現性の良好さは、従来の煩雑な方法に付随する実験誤差を補って余りあると云える。

### 結 論

Zurkowski 紫田法は、総じて正確性、再現性、回収試験、日差変動などの成績から、日常検査法として充分使用しうると考える。